



Ikan nila utuh beku



© BSN 2013

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	2
4 Syarat bahan baku dan bahan penolong.....	2
6 Pengambilan contoh	3
7 Cara uji	3
8 Teknik sanitasi dan higiene	4
9 Peralatan	4
10 Penanganan dan Pengolahan	4
11 Persyaratan pengemasan.....	7
12 Pelabelan.....	7
Lampiran A (normatif) Lembar penilaian organoleptik.....	8
Lampiran B (informatif) Diagram alir proses ikan nila utuh beku	9
Lampiran C (informatif) Metode uji malachite green dan leucomalachite green.....	10
Bibliografi	13
Gambar B.1 - Diagram alir proses ikan nila utuh beku	9
Tabel 1 - Persyaratan mutu dan keamanan ikan nila utuh beku	3
Tabel A.1 - Lembar penilaian organoleptik ikan nila utuh beku	8

Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan komoditas ikan nila utuh beku yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Standar ini merupakan revisi dari:

SNI 01-7143.1-2005, *Ikan nila (Oreochromis sp.) utuh beku - Bagian 1: Spesifikasi*,
SNI 01-7143.2-2005, *Ikan nila (Oreochromis sp.) utuh beku bagian 2: Persyaratan bahan baku*,
SNI 01-7143.3-2005, *Ikan nila (Oreochromis sp.) utuh beku bagian 3: Penanganan dan pengolahan*

Standar ini disusun oleh Panitia Teknis 65-05 Produk Perikanan, yang telah dirumuskan melalui rapat-rapat teknis, dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 28 Oktober 2011 di Jakarta serta dihadiri oleh wakil dari produsen, konsumen, asosiasi, lembaga penelitian, perguruan tinggi serta instansi terkait sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Berkaitan dengan penyusunan Standar Nasional Indonesia ini, maka aturan-aturan yang dijadikan dasar atau pedoman adalah:

1. Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan.
2. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen.
3. Undang-Undang Nomor 45 Tahun 2009 tentang Perubahan atas Undang-Undang Nomor 31 Tahun 2004 tentang Perikanan.
4. Peraturan Pemerintah Nomor 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
5. Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air.
6. Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan.
7. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor PER.19/MEN/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan.
8. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor PER.15/MEN/2011 tentang Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang Masuk ke dalam Wilayah Negara Republik Indonesia.
9. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI Nomor HK.00.06.1.52.4011 Tahun 2009 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan.
10. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor KEP.06/MEN/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
11. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor KEP.01/MEN/2007 tentang Persyaratan Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan pada Proses Produksi, Pengolahan dan Distribusi.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 28 Desember 2011 sampai 27 Februari 2012 dengan hasil akhir RASNI.

Ikan nila utuh beku

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan syarat mutu dan keamanan pangan ikan nila utuh beku, bahan baku, bahan penolong dan bahan lainnya serta penanganan dan pengolahan produk.

Standar ini berlaku untuk ikan nila utuh beku dan tidak berlaku untuk produk yang mengalami pengolahan lebih lanjut.

2 Acuan normatif

Acuan ini merupakan dokumen yang digunakan dari standar ini. Untuk acuan bertanggal, edisi yang berlaku sesuai yang tertulis. Sedangkan untuk acuan yang tidak bertanggal berlaku edisi yang terakhir (termasuk amandemen).

SNI 2326:2010, *Metode pengambilan contoh pada produk perikanan*.

SNI 01-2332.1.2006, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 1: Penentuan Coliform dan Eschericia coli pada produk perikanan*.

SNI 01-2332.2.2006, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 2: Penentuan Salmonella pada produk perikanan*.

SNI 01-2332.3.2006, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada produk perikanan*.

SNI 01-2332.4-2006, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 4: Penentuan Vibrio cholerae pada produk perikanan*.

SNI 2332.6:2009, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 6: Penentuan parasit cacing pada produk perikanan*.

SNI 2346:2011, *Petunjuk pengujian organoleptik dan atau sensori pada produk perikanan*.

SNI 2354.5:2011, *Cara uji kimia - Bagian 5: Penentuan kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada produk perikanan*.

SNI 01-2354-6-2006, *Cara uji kimia - Bagian 6: Penentuan kadar logam merkuri (Hg) pada produk perikanan*.

SNI 2354.9:2009, *Cara uji kimia - Bagian 9: Penentuan residu kloramfenikol dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada produk perikanan*.

SNI 2357, *Produk perikanan, Penentuan kadar arsen pada produk perikanan*.

SNI 2367, *Produk perikanan, Penentuan kadar timah putih (Sn) pada produk perikanan*.

SNI 01-2372.1-2006, *Cara uji fisika - Bagian 1: Penentuan suhu pusat pada produk perikanan*.

SNI 2729, *Ikan segar*.

SNI 7587.1:2010, *Metode uji residu antibiotik secara enzyme linked immunoassay (ELISA) pada ikan dan udang - Bagian 1: Semicarbazide (SEM)*.

SNI 7587.2:2010, *Metode uji residu antibiotik secara enzyme linked immunoassay (ELISA) pada ikan dan udang - Bagian 2: Aminohydantoin (AHD)*.

SNI 7587.3:2010, *Metode uji residu antibiotik secara enzyme linked immunoassay (ELISA) pada ikan dan udang - Bagian 3: Chloramphenicol (CAP)*.

3 Istilah dan definisi

3.1

ikan nila utuh beku

produk olahan hasil perikanan dengan bahan baku ikan nila hidup dan atau utuh segar yang mengalami perlakuan penyiangan dan pembekuan

3.2

potensi bahaya

potensi kemungkinan terjadinya risiko bahaya di dalam suatu proses atau pengolahan produk yang meliputi dua aspek yaitu bahaya yang akan mengakibatkan gangguan terhadap keamanan (*food safety*) dan mutu produk/keutuhan pengolahan (*wholesomeness*)

4 Syarat bahan baku dan bahan penolong

4.1 Bahan baku

4.1.1 Jenis

Ikan nila (*Tilapia* spp., *Oreochromis* spp., *Sarotherodon* spp.)

4.1.2 Bentuk

Ikan nila utuh.

4.1.3 Asal

Bahan baku berasal dari perairan yang tidak tercemar.

4.1.4 Mutu

Secara organoleptik bahan baku ikan hidup mempunyai karakteristik:

- Kenampakan : hidup dan reaktif terhadap sentuhan
- Badan : utuh, tidak terdapat luka atau cacat
- Warna : Spesifik jenis dan cerah
- Insang : Tutup insang normal saat bernafas

Bahan baku ikan utuh segar sesuai SNI 2729.

4.2 Bahan penolong

4.2.1 Air

Air yang dipakai sebagai bahan penolong untuk kegiatan di unit pengolahan harus memenuhi persyaratan kualitas air minum sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

4.2.2 Es

Es sesuai SNI 01-4872.1-2006.

5 Syarat mutu dan keamanan produk

Persyaratan mutu dan keamanan pangan ikan nila utuh beku sesuai Tabel 1.

Tabel 1 - Persyaratan mutu dan keamanan ikan nila utuh beku

Parameter uji	Satuan	Persyaratan
a Sensori	-	Min 7 (Skor 1 - 9)
b Cemarkan mikroba		
- ALT	koloni/g	$1,0 \times 10^5$
- <i>Escherichia coli</i>	APM/g	<3
- <i>Salmonella</i>	-	Negatif/25g
- <i>Vibrio cholerae</i>	-	Negatif/25g
- Parasit cacing*	ekor	0
c Cemarkan logam		
- Arsen (As)	mg/kg	Maks 1,0
- Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks 0,05
- Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks 0,5
- Timah (Sn)*	mg/kg	Maks 40,0
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,3
d Residu kimia		
- Kloramfenikol	-	Tidak boleh ada
- Malachite green dan Leucomalachite green	-	Tidak boleh ada
- Metabolit Nitrofurantoin	-	Tidak boleh ada
e. Fisika		
- Suhu pusat	°C	Maks -18
CATATAN * Bila diperlukan		

6 Pengambilan contoh

Pengambilan contoh sesuai SNI 2326:2010.

7 Cara uji

7.1 Organoleptik

Penilaian organoleptik sesuai SNI 2346:2011. Penilaian organoleptik sesuai Lampiran A.

7.2 Mikrobiologi

- *Escherichia coli* sesuai SNI 01- 2332.1-2006.
- *Salmonella* sesuai SNI 01-2332.2-2006.
- ALT sesuai SNI 01-2332.3-2006.
- *Vibrio cholerae* sesuai SNI 01-2332.4-2006.
- Parasit cacing sesuai SNI 2332.6:2009.

7.3 Kimia

- Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) sesuai SNI 2354.5:2011.
- Merkuri sesuai SNI 01-2354.6-2006.
- Timah sesuai SNI 2367.

SNI 7143:2013

- Arsen sesuai SNI 2357.
- Kloramfenikol sesuai SNI 2354.9:2009.
- Metabolit nitrofurantoin sesuai SNI 7587.1:2010, SNI 7587.2:2010.
- *Malachite Green* dan *Leucomalachite Green* sesuai dengan Lampiran C.

7.4 Fisika

Suhu pusat sesuai SNI 01-2372.1-2006.

8 Teknik sanitasi dan higiene

Penanganan, pengolahan, pengemasan, penyimpanan, pendistribusian dan pemasaran ikan nila utuh beku dilakukan dengan menggunakan wadah, cara dan alat yang sesuai dengan persyaratan sanitasi dan higiene dalam unit pengolahan hasil perikanan sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Produk akhir harus bebas dari benda asing yang mengganggu kesehatan manusia.

9 Peralatan

9.1 Jenis peralatan

- a) alat pembeku,
- b) alat pembuang sisik,
- c) alat pemotong,
- d) bak penampungan,
- e) keranjang plastik,
- f) meja proses,
- g) pan pembeku,
- h) timbangan.

9.2 Persyaratan peralatan

Semua peralatan yang digunakan dalam penanganan dan pengolahan ikan nila utuh beku mempunyai permukaan yang halus dan rata, tidak mengelupas, tidak berkarat, tidak merupakan sumber cemaran mikroba, tidak retak, tidak menyerap air, dirancang sesuai dengan persyaratan sanitasi dan mudah dibersihkan. Semua peralatan dalam keadaan bersih sebelum, selama dan sesudah digunakan.

10 Penanganan dan Pengolahan

10.1 Penerimaan

10.1.1 Kemasan

- a) Potensi bahaya: ketidakamanan produk karena bahan kemasan *non food grade* dan kurangnya sanitasi dan higiene.
- b) Tujuan: mendapatkan kemasan yang sesuai spesifikasi kemasan untuk pangan.
- c) Petunjuk: kemasan yang diterima di unit pengolahan diverifikasi terkait keamanan pangan dan terhindar dari sumber kontaminasi kemudian disimpan pada gudang penyimpanan yang saniter.

10.1.2 Label

- a) Potensi bahaya: ketidakamanan produk karena bahan label *non food grade* dan kurangnya sanitasi dan higiene.
- b) Tujuan: mendapatkan label yang sesuai spesifikasi label untuk pangan.
- c) Petunjuk: label yang diterima di unit pengolahan diverifikasi terkait keamanan pangan dan terhindar dari sumber kontaminasi kemudian disimpan pada gudang penyimpanan yang saniter.

10.1.3 Bahan baku

- a) Potensi bahaya: kemunduran mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan bahan baku sesuai spesifikasi mutu ikan nila utuh beku.
- c) Petunjuk: bahan baku ikan nila diterima dalam kondisi hidup dan atau segar segera dimasukkan ke dalam air dingin dengan suhu maksimum 5 °C secara cepat, cermat, dan saniter.

10.2 Teknik penanganan dan pengolahan

10.2.1 Pengeluaran darah (*Bleeding*)

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen dan kemunduran mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan bahan baku yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila disayat bagian bawah pangkal insang (*operculum*) dan dimasukkan ke dalam air agar darah mengalir keluar dengan maksimal. Penanganan dilakukan secara cepat, cermat dan saniter dengan tetap mempertahankan rantai dingin (0 °C – 5 °C).

10.2.2 Pembilasan 1

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen karena kurangnya sanitasi dan higiene.
- b) Tujuan: menghilangkan sisa darah dan mencegah pertumbuhan dan atau kontaminasi bakteri patogen.
- c) Petunjuk: ikan nila dibilas dengan air dingin dan dapat mengandung klorin maksimum 10 mg/kg bila diperlukan dengan tetap mempertahankan rantai dingin (0 °C – 5 °C).

10.2.3 Penyiangan

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen karena kurangnya sanitasi dan higiene dan cacat mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan bahan baku yang aman, bersih dari cemaran mikroba yang berasal dari sisik, isi perut dan insang.
- c) Petunjuk: ikan nila dibuang sisik, isi perut, insang atau masih dengan insang, secara cepat, cermat dan saniter dalam kondisi dingin (0 °C – 5 °C).

10.2.4 Pencucian

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen dan cacat mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu bahan baku yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila dicuci menggunakan air dingin mengalir secara cepat, cermat dan saniter pada kondisi dingin (0 °C – 5 °C).

10.2.5 Pembilasan 2

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen dan cacat mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu bahan baku yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila dibilas menggunakan air dingin, kemudian dimasukkan ke dalam wadah berisi air dingin untuk mempertahankan rantai dingin ($0^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$) secara cermat dan saniter.

10.2.6 Sortasi

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen karena kurangnya sanitasi dan higiene, dan kemunduran mutu produk karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu ikan nila yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila dipisahkan berdasarkan mutu secara cepat, cermat, dan saniter dengan tetap mempertahankan rantai dingin ($0^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$).

10.2.7 Pencucian akhir

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu ikan nila yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila dicuci dengan air dingin secara cepat, cermat, dan saniter, kemudian ditiriskan dengan tetap mempertahankan rantai dingin ($0^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$).

10.2.8 Pembekuan

- a) Potensi bahaya: kemunduran mutu produk karena pembekuan yang tidak sempurna.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu produk yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila disusun dalam pan dan dibekukan cepat pada suhu dan waktu sesuai spesifikasi untuk mencapai suhu pusat produk maksimal -18°C .

10.2.9 Penggelasan

- a) Potensi bahaya: kemunduran mutu produk karena penggelasan yang tidak sempurna.
- b) Tujuan: mendapatkan mutu produk yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila utuh beku dilepas dari pan, dilakukan penggelasan dengan air dingin pada suhu $0^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$ secara cepat, cermat, dan saniter. Untuk ikan nila utuh beku yang tidak mengalami penggelasan langsung ke Subpasal 10.2.10.

10.2.10 Pengemasan 1 (*inner pack*)

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen dan cacat mutu ikan nila karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mendapatkan ikan nila beku yang aman sesuai spesifikasi.
- c) Petunjuk: ikan nila utuh beku baik yang mengalami proses penggelasan maupun tidak, dimasukkan dalam kantong plastik *food grade* satu persatu, ditutup, dan atau divakum secara cepat, cermat, dan saniter dengan tetap mempertahankan rantai dingin ($0^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$).

10.2.11 Pengemasan 2 (*master box*)

- a) Potensi bahaya: kemunduran mutu karena kerusakan fisik dan kesalahan label terkait keamanan pangan.
- b) Tujuan: mendapatkan produk yang aman dikonsumsi dan melindungi produk dari

- kerusakan fisik kemasan selama penyimpanan dan transportasi.
- c) Petunjuk: ikan nila utuh beku dikemas dengan cepat, cermat dan saniter.

10.2.12 Penyimpanan

- a) Potensi bahaya: kontaminasi bakteri patogen dan kemunduran mutu karena kesalahan penanganan.
- b) Tujuan: mempertahankan mutu produk dan menghindari pertumbuhan bakteri patogen.
- c) Petunjuk: produk disimpan dalam gudang beku (*cold storage*) pada suhu $(-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C})$ dengan pengaturan yang memudahkan pembongkaran dengan sistem *FIFO* (*first in first out*).

10.2.13 Pemuatan

- a) Potensi bahaya: kemunduran mutu karena kesalahan penanganan dan kontaminasi bakteri patogen karena kurangnya sanitasi dan higiene.
- b) Tujuan: mendapatkan produk yang aman dikonsumsi dan melindungi produk dari kerusakan fisik selama pemuatan.
- c) Petunjuk: produk dimuat dalam alat transportasi yang dapat mempertahankan suhu pusat produk maksimum $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

11 Persyaratan pengemasan

11.1 Bahan kemasan

Bahan kemasan harus bersih, tidak mencemari produk yang dikemas, terbuat dari bahan yang baik dan memenuhi persyaratan bagi produk pangan.

11.2 Teknik pengemasan

Produk dikemas dengan cepat, cermat, saniter dan higienis. Pengemasan dilakukan dalam kondisi yang dapat mencegah terjadinya kontaminasi.

12 Pelabelan

Setiap kemasan produk yang akan diperdagangkan diberi label sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Lampiran A
(normatif)
Lembar penilaian organoleptik

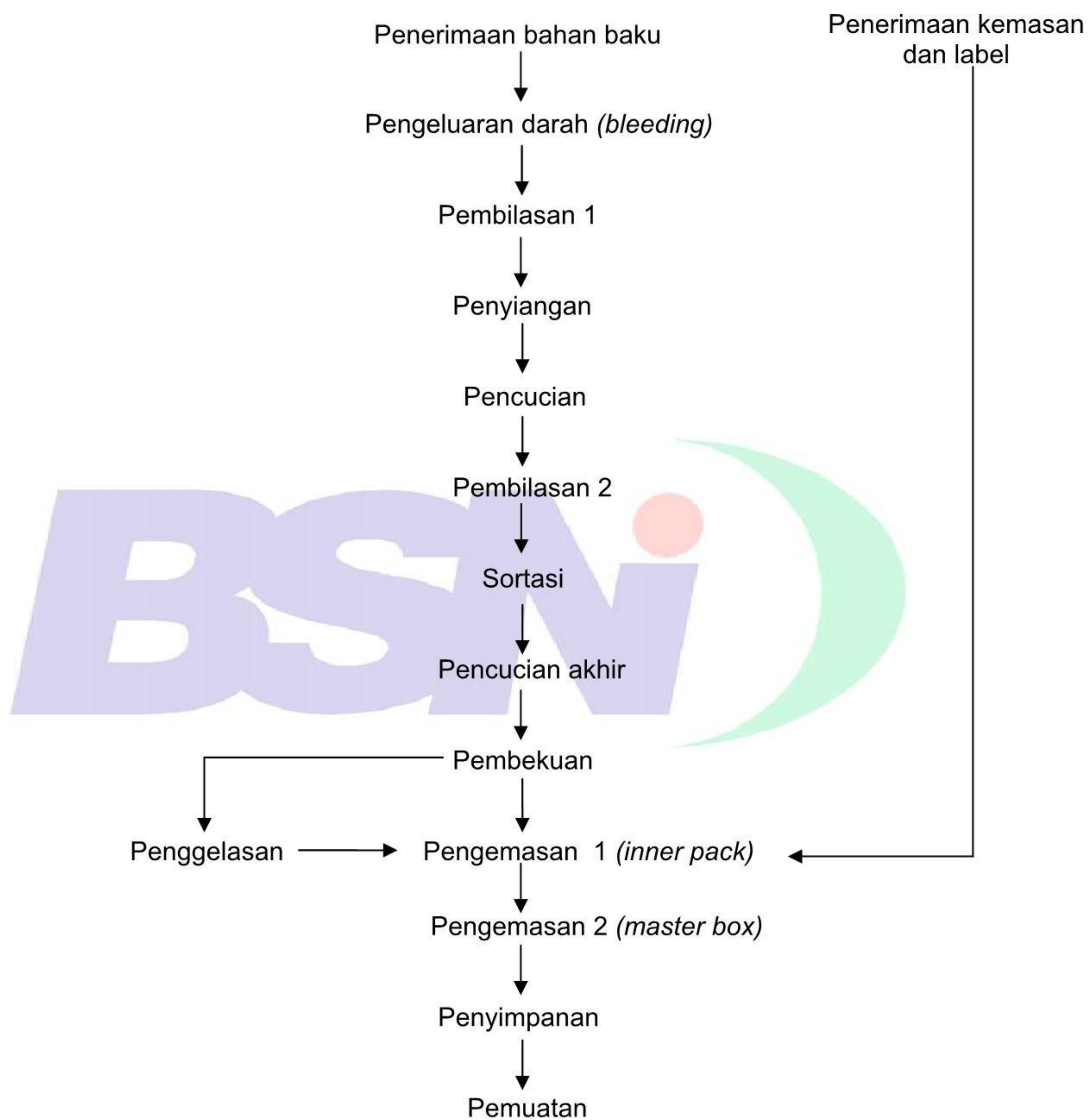
Tabel A.1 - Lembar penilaian organoleptik ikan nila utuh beku

Nama panelis : Tanggal:

- Cantumkan kode contoh pada kolom yang tersedia sebelum melakukan pengujian.
- Berilah tanda √ pada nilai yang dipilih sesuai kode contoh yang diuji.

Spesifikasi	Nilai	Kode contoh				
		1	2	3	4	5
A. Dalam keadaan beku						
1 Kenampakan						
• Rata, bening, dan cukup tebal.	9					
• Tidak rata, ada bagian yang terbuka	7					
• Tidak rata, bagian yang terbuka cukup banyak	5					
• Banyak bagian-bagian yang terbuka	3					
• Tidak terdapat lapisan es pada permukaan produk	1					
2 Pengerinan (dehidrasi)						
• Tidak mengalami pengerinan	9					
• Sedikit sekali pengerinan	7					
• Pengerinan mulai jelas	5					
• Banyak bagian yang mengering	3					
• Kering dan terjadi <i>freeze-burning</i>	1					
3 Perubahan warna (diskolorasi)						
• Belum mengalami perubahan warna	9					
• Sedikit mengalami perubahan warna	7					
• Banyak mengalami perubahan warna	5					
• Perubahan warna hampir menyeluruh	3					
• Perubahan warna menyeluruh	1					
B Sesudah pelelehan (<i>thawing</i>)						
1. Kenampakan						
• Utuh, warna sayatan daging cemerlang	9					
• Utuh, warna sayatan daging kurang cemerlang	7					
• Sedikit luka fisik, warna sayatan daging agak kusam	5					
• Banyak luka fisik, sayatan daging kusam	3					
• Tidak utuh, sayatan daging sangat kusam	1					
2. Bau						
• Sangat segar, spesifik jenis ikan air tawar	9					
• Segar, spesifik jenis ikan air tawar, ada sedikit bau lumpur	7					
• Tidak segar, mulai ada bau tambahan	5					
• Mulai tercium bau ammonia	3					
• Busuk	1					
3. Tekstur						
• Padat, kompak, dan elastis	9					
• Padat, sedikit kompak, dan sedikit elastis	7					
• Kurang padat, kurang kompak, kurang elastis	5					
• Mulai lembek	3					
• Sangat lembek	1					

Lampiran B
(informatif)
Diagram alir proses ikan nila utuh beku



Gambar B.1 - Diagram alir proses ikan nila utuh beku

Lampiran C
(normatif)
Metode uji malachite green dan leucomalachite green

1 Prinsip:

Contoh diekstrak dengan acetonitril setelah terlebih dahulu dikondisikan dengan buffer asetat pH 4,5. Hasil ekstrak dalam acetonitril dipisahkan dengan centrifuge. Ekstrak tersebut diekstraksi cair-cair dengan diklorometana dan air. Fraksi organik diuapkan dengan rotary evaporator. Untuk membersihkan analit dan kotoran dan senyawa-senyawa lain yang tidak diinginkan dilakukan pembersihan (*clean-up*) melalui SPE alumina dan PRS. Analit dielusikan dengan asetonitril-buffer asetat untuk langsung diinjeksikan ke KCKT.

2 Peralatan:

- a. Peralatan gelas
- b. *Homogenizer*
- c. Rotoevaporator
- d. *Vortex*
- e. *Column connection adaptor*
- f. *Centrifuge*
- g. Unit membran filter
- h. Unit alat LC/Vis-Fluoresence

3 Reagensia:

- a. *Methylen chlorida*
- b. Metanol
- c. Acetonitrile
- d. Water LC
- e. *Deionize water* (> 14 M ohm)
- f. *Glacial acetic acid*
- g. *Sodium acetate* 0.1 M (8.2 g/L)
- h. *p-toluenesulfonic acid* (p-TSA) 1 M (19.02 g p-TSA H₂O dalam 100 mL)
- i. Buffer Acetat : siapkan 1 L Na Acetat 0.1 M, atur pH agar menjadi 4.5 dengan menambahkan 8 mL asam acetat glacial dan 5 mL p-TSA 1M.
- j. *Diethylene glycol*
- k. *Basic Alumina*
- l. *Alumina SPE column*
- m. *Propylsulfonic acid* (PRS-SPE) *column*
- n. *Hydroxylamine Hydrochloride* (HAH) 25 % (25 g /100 mL)
- o. Standar Malachite Green (MG) dan Leucomalachite Green (LMG)

Larutan standar MG dan LMG masing-masing dibuat 1000 µg/mL dalam acetonitril, simpan dalam wadah gelap pada temp dibawah -16 °C.

Larutan standar 1 µg/mL dibuat dengan mengencerkan secara bertahap dengan acetonitril.

Larutan standar kerja dibuat dengan mengencerkan secara bertahap sampai pada level (2; 4 ;8 dan 16) ng/mL diencerkan dengan *mobile phase* dibuat segar setiap akan dilakukan analisa.

4 Prosedur

4.1 Penyiapan contoh

- Siapkan *beaker glass* 200 mL.
- Preparasi contoh dan spike sebagai berikut:

Contoh uji	Berat Contoh (g)	Larutan Standar Campuran MG-LMG 500 µg/L yang ditambahkan (µL)
Spike 1 ng/g	5	10
Spike 2 ng/g	5	20
Contoh 1 – n	5	-

- Tambahkan 1,5 mL *HAH* 25%; 2,5 mL *p-TSA* 1 M; 5 mL *acetic buffer* 0.1 M (pH 4,5).
- Homogenkan dengan *homogenizer* selama 1 menit.
- Tambahkan 45 mL *acetonitril*.
- Homogenkan lagi.
- Tambahkan 10 gr *basic alumina*.
- Masukkan ke dalam wadah tertutup kemudian *vortex* selama 1 menit.
- Sentrifuge* pada 3500 rpm selama 10 menit.
- Tuangkan cairan (dekantasi) filtrat ke dalam corong pisah.
- Pada endapan tambahkan lagi 45 mL *acetonitril*.
- Vortex* selama 1 menit.
- Sentrifuge* pada 2500 rpm selama 10 menit.
- Dekantasi filtrat kedalam corong pisah yang sama dengan langkah (8.1.10).

4.2 Ekstraksi cair-cair

- Ke dalam corong pisah yang berisi filtrat, tambahkan 100 mL air; 50 mL *dichloromethan*; 2 mL *diethylglycol*.
- Kocok larutan dalam corong pisah selama 1 menit.
- Biarkan memisah selama kurang lebih 15 menit.
- Tampung lapisan bawah dalam labu alas bulat.
- Kedalam corong pisah tambahkan lagi 50 mL *dichloromethane*.
- Kocok lagi selama 1 menit.
- Tampung lapisan bawah ke dalam labu alas bulat yang sama dengan langkah (8.2.4).
- Rotoevaporate* sampai tersisa 2-5 mL.
- Tambahkan 5 mL *acetonitril*.

4.3 Pemurnian (Clean-Up)

- Bilas *alumina SPE* dan *PRS-SPE* masing-masing dengan 5 mL *acetonitril*.
 - Sambungkan *alumina SPE* diatas *PRS-SPE* dengan *connector*.
 - Lewatkan contoh dengan kecepatan 4 mL/min.
 - Bilas labu alas bulat dengan 5 mL *acetonitril*.
 - Tuang dan lewatkan ke dalam *SPE*.
 - Lepaskan sambungan *alumina SPE* setelah semua contoh dilewatkan.
 - Bilas *PRS-SPE* dengan 1 mL larutan *acetonitril* : *buffer asetat* (1:1) kemudian buang.
 - Elusikan 2,5 mL *mobile phase* kemudian tampung dalam tabung reaksi.
 - Masukkan dalam vial.
 - Contoh siap di-*inject* ke alat LC/Vis-Floresence.
- Catatan : Spike 1 ng/g setara dengan larutan standar 2 ng/mL.
Spike 2 ng/g setara dengan larutan standar 4 ng/mL.

5 Kondisi Operasi KCKT

- a) Column : Phenomenex Luna C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) atau yang setara, seperti C18 Sunfire
- b) Detector : Detector I Visible λ= 621 nm untuk MG, diteruskan detektor II Fluoresens Eksitasi λ=265 nm dan Emisi λ= 360 nm.
- c) Mobile Phase : Asetonitril : buffer asetat pH 4,5 (85 : 15 v/v)
- d) Flow rate : 1 mL/menit
- e) Volume Injek : 50 µL

6 Pembacaan larutan standar kerja (sebagai kalibrasi internal rutin)

Baca larutan standar kerja yang sudah disiapkan (7.15.c) pada Instrumen KCKT hingga mendapatkan kurva kalibrasi dengan koefisien regresi 0.9. Apabila hasil pembacaan larutan standar kerja tersebut belum mendapatkan nilai koefisien regresi 0.9 maka harus dilakukan pengecekan terhadap kondisi instrumen dan larutan standar kerja. Jika nilai koefisien regresi telah mencapai lebih dari 0,9 maka kurva standar dengan persamaan $Y = a + bX$ dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi analit dalam contoh. Baca blanko, spike dan contoh yang sudah disiapkan pada 8.3 dengan kondisi operasi instrumen sama pada saat kalibrasi rutin.

7 Perhitungan.

$$\text{Kadar kloramfenikol (ng/g)} = \frac{(\text{Area Contoh-Area Blanko})}{(\text{Area Standar-Area Blanko Std})} \times \frac{\text{Konsentrasi Std (ng/mL)} \times \text{Volume Akhir (mL)}}{\text{Berat Contoh (g)}}$$

8 Pelaporan

Jika angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan kebawah, tetapi bila lebih dari 5 (lima) pembulatan keatas.

Contoh: 14,454 dibulatkan menjadi 14,45
14,466 dibulatkan menjadi 14,47

Jika angka ke tiga di belakang koma 5 (lima), dan angka kedua genap, maka angka lima tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka pembulatan ke atas.

Contoh: 14,765 dibulatkan menjadi 14,76
14,475 dibulatkan menjadi 14,48

Bibliografi

Comission Regulation (EC) No 1881/2006, amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards heavy metals-Official Journal of the European Union.

Council Regulation (EC) No 104/2000 (o) L 17.21.1.2000.p.22- Office for Official Publications of the European Communities.

Mitrowska, K. and A. Posyniak. Determination of Malachite Green and Its Metabolite, Leucomalachite Green, in Fish Muscle by Liquid Chromatography. Bull. Vet. Inst. Pulawy 48, 173-176, 2004.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: Hk.00.05.55.6497, tentang Bahan Kemasan Pangan, Tahun 2007.

Permenkes Nomor 492/Menkes/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum.

